

## 学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
学籍番号	13D747	氏名	明石 瑛美子
論文題目	Effects of galectin-9 on apoptosis, cell cycle and autophagy in human esophageal adenocarcinoma cells		

## (論文要旨)

目的；近年，食道腺癌は特に欧米諸国において急速に増加しているが，未だ予後は不良である．ガレクチン-9(Gal-9)はタンデムリピート型の $\beta$ -ガラクトシド結合蛋白のひとつであり，様々な癌においてアポトーシスを誘導し腫瘍増殖抑制効果を示すことが報告されているが，食道腺癌に対する検討はなされていない．今回，我々は食道腺癌細胞におけるGal-9による増殖抑制効果およびその機構についてin vitroで検討した．

方法；4種類の食道腺癌細胞株(OE19, OE33, SK-GT4, OACM5. 1C)を使用した．これらの細胞株に対してGal-9(0.1  $\mu$ M $\sim$ 1  $\mu$ M)を投与し，MTT assayで細胞増殖抑制効果を検討した．Gal-9のアポトーシス誘導効果を調べるため，caspase-cleaved cytokeratin18の発現の測定，Annexin V-FITC kitを用いた解析，カスパーゼ活性をWestern blotで解析した．Gal-9のオートファジーへの影響を検討するためLC3, SQSTM1/p62をWestern blotで解析した．Gal-9が細胞周期に与える効果をフローサイトメトリーで検討し，細胞周期関連蛋白群をWestern blotで解析した．Gal-9投与によるレセプター型チロシンキナーゼ群，血管新生分子群の変化をアレイチップにて解析した．Gal-9の投与で変化するmicroRNAを同定するため，2555分子が搭載されたチップを用いて網羅的に解析した．

結果；4種類すべての食道腺癌細胞株において，Gal-9の投与により濃度依存的に増殖抑制効果を示した(Fig1)．SK-GT4, OE19, OE33においてcaspase-cleaved cytokeratin18の濃度が上昇しており，アポトーシスが誘導されていた(Fig2A)．Annexin V-FITC kitを用いた解析にてもSK-GT4においてアポトーシスが誘導されていた(Fig2B, C)．SK-GT4においてGal-9の投与により活性型カスパーゼ3，活性型カスパーゼ9の発現は増加したが(Fig2D)，カスパーゼ阻害薬存在下にGal-9を投与してもアポトーシスの抑制はみられず，カスパーゼ非依存性アポトーシスがより強く関与していると考えられた．(Fig2E)．SK-GT4においてGal-9はオートファジーを阻害していた(Fig2F)．細胞周期の解析では，SK-GT4においてGal-9による変化は認めず，細胞周期関連蛋白の発現も変化なかった．Gal-9はSK-GT4においてIL-8の血管新生分子を増強させた(Fig3)．レセプター型チロシンキナーゼ群ではSK-GT4においてGal-9投与による変化は認めなかった．Gal-9投与群は非投与群と異なるmicroRNAプロファイルを形成していた(Fig4)．特に有意差を持って31種のmicroRNAがup-regulate, 10種がdown-regulateしていた．

結論；Gal-9は4種類の食道腺癌細胞株において細胞増殖を抑制した．SK-GT4においては，その抑制機構はカスパーゼ非依存性アポトーシスとオートファジー阻害が関与している可能性がある．実臨床においては，薬剤抵抗性食道腺癌においてオートファジー阻害剤としての相乗効果も期待できる．また，同定されたmiRNAのうち，Gal-9投与によりmiR-200cの発現が抑制されていた．miR-200cの過剰発現は食道腺癌において予後不良となることが報告されており，このmiR-200c発現抑制がGal-9の抗腫瘍効果に関係している可能性が示唆された．

Fig1)

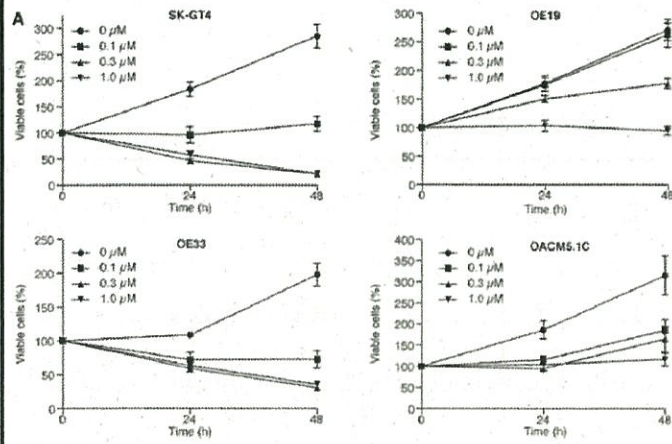


Fig2)

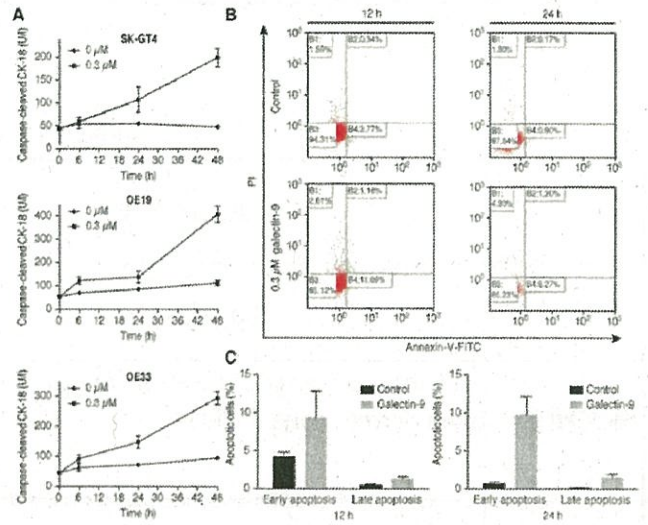


Fig2)

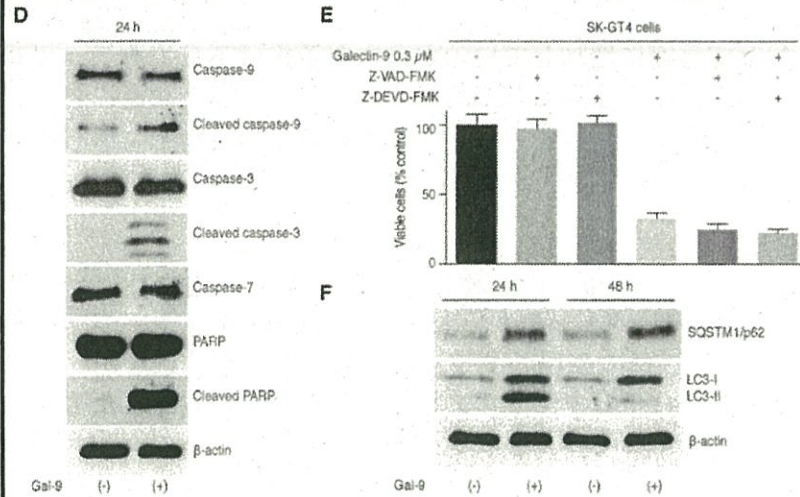


Fig3)

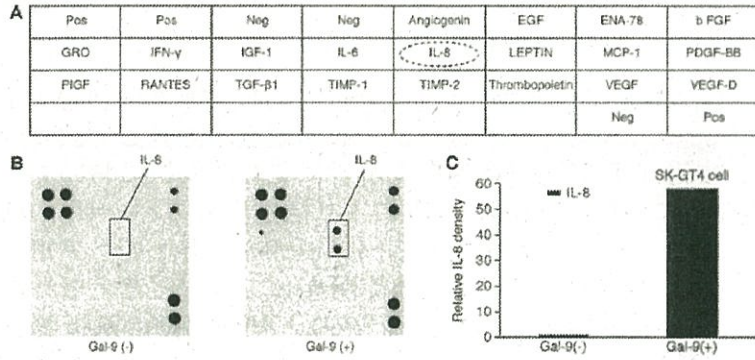
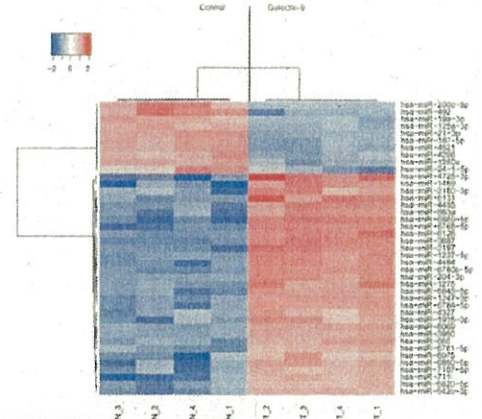


Fig4)



掲載誌名	Oncology Reports	第	卷, 第	号
(公表予定) 掲載年月	2017年5月19日受理	出版社(等)名	Spandidos Publications	
Peer Review	有	無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。